# 野生植物种子采集技术规范\*

蔡 杰<sup>1,2,3</sup>,张 挺<sup>1</sup>,刘 成<sup>1</sup>,张桥蓉<sup>1</sup>,郭永杰<sup>1</sup>,杨湘云<sup>1\*\*</sup> (1中国科学院昆明植物研究所中国西南野生生物种质资源库,云南昆明 650201;2中国科学院大学, 北京 100049;3云南大学生命科学学院,云南昆明 650091)

摘要:采集保存野生植物种子已成为植物多样性保护的主要手段之一,也是植物种质资源收集保藏的重要途径。虽然农作物种子的采集技术及相关的理论研究已有长期的积累和实践应用,但并不完全适用于野生植物。采集高质量的种子及其相关的实物和信息是植物种质资源长期保存和后续利用的关键,世界各国在建立种子收集保藏设施的同时,也对野生植物种子采集的相关技术开展了理论研究,制定了相应的技术规范,但国内尚未形成统一的野生植物种子采集技术标准和规范。本文根据野生植物的生物学特性与近十年来的实践经验,建议按"采集单元"对野生植物种子及其对应的实物和信息同时进行采集,一个"采集单元"应包括种子、凭证标本、野外数据、图片和 DNA 材料,并针对采集单元的各个组成部分制定了采样策略、种子采集和采集后处理、凭证标本采集和鉴定、野外数据和图片的采集与整理等方面的技术规范。我们期望通过这些标准规范的实施,在实践中不断修订和完善相关的技术,为我国的科研人员和决策者在开展植物种质资源的收集保藏时提供参考和借鉴。

关键词: 植物种质资源; 种子库; 采样策略; 种子采集; 技术规范; 采集单元

中图分类号: 0 94-34

文献标识码: A

文章编号: 2095-0845(2013)03-221-13

# Synopsis of Technical Standards for Collecting Seeds from Wild Plants

CAI Jie  $^{1,2,3}$  , ZHANG Ting  $^1$  , LIU Cheng  $^1$  , ZHANG Qiao-Rong  $^1$  , GUO Yong-Jie  $^1$  , YANG Xiang-Yun  $^{1\,**}$ 

(1 Germplasm Bank of Wild Species, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China;
2 Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3 College of Life Sciences,

Yunnan University, Kunming 650091, China)

**Abstract**: Collecting and banking seeds of wild plant is a complementary tool for plant diversity conservation, as well as an important practice on germplasm's long-term preservation. Although the sampling methodology and collecting technical standards had been well developed in crop germplasm preservation activities, it is not able to be fully adopted for the wild plant species due to the objective and species differences. The initial quality of seeds is critical for long-term storage and its associated material and information are also essential for the further utilization, technical standards for collecting seeds from wild plants are developed in many countries to improve the quality of seeds collection and data, but are not widely available in China. In this paper, we proposed that seeds, herbarium vouchers, associated field data, images and DNA samples shall be collected simultaneously if it is possible as an entire collection unit, the technical standards for each of the five components of collection unit are also presented here, together with protocols in sampling strategy and seed post-harvest handling.

Key words: Plant germplasm; Seed bank; Sampling strategy; Seed collecting; Technical standards; Collection unit

<sup>\*</sup> 基金项目: 科技部科技基础性工作专项重点项目 (2007FY110100), 国家科技部国家科技基础条件平台建设子项目 (2005DKA21006), 中国科学院大科学装置

<sup>\*\*</sup> 通讯作者: Author for correspondence; E-mail: yxy@ mail. kib. ac. cn

收稿日期: 2013-03-21, 2013-04-22 接受发表

作者简介:蔡杰(1979-)男,硕士,工程师,主要从事植物分类学、野生植物种子采集和保存工作。E-mail: j. cai@ mail. kib. ac. cn

种子是有花植物世代繁衍的重要器官之一。 在合适的保存条件下,绝大多数植物的种子能在 一个生长季到下一个生长季或更长的时间内保持 活力,这一特性使人类可以在大约 10000 年前开 始农作物栽培,并成为人类文明发展的转折点 (Balter, 2007; Dillehay 等, 2007)。时至今日, 种子仍是人类赖以生存的主要食物之一,也是农 业生产活动中最重要的生产资料。

根据联合国粮农组织(FAO)的统计,全球农作物种子库已收集保存植物种质资源约600万份,其中以种子形式保存的农作物种质资源占90%(FAO,1997)。在最新的报告中显示,世界范围内已建立各类种子库约1750个,收集保存的农业和粮食植物种质资源已达740万份,而种子仍然是植物种质资源保存的主要形式(FAO,2010)。

随着植物多样性的快速消失且严重威胁到人类的生存和发展,各国政府把植物多样性的保护和可持续利用作为履行《生物多样性公约》的核心内容。由于种子库可以在有限的空间内保存大量的植物个体数和遗传多样性,种子库技术已逐渐成为保护植物多样性的重要手段。长期以来在农作物种子收集保存过程中形成的理论基础和经验技术,也被运用到野生植物种子的收集和保藏实践中。联合国粮农组织的统计报告指出,1996年至2009年间,全球范围内收集保存的野生植物种质资源从90万份增加至133.2万份(FAO, 2010),世界各国越来越重视对野生植物种质资源的收集和保存。

大规模收集保存野生植物种子始于上世纪末。 在英国皇家植物邱园(Royal Botanic Gardens, Kew)的"千年种子库项目"(Millennium Seed Bank Project,以下简称"英国千年种子库")的支持和推动下,野生植物种子采集和保存的理论和技术得到了进一步的发展,欧盟主要成员国及美国、澳大利亚、中国、南非、肯尼亚、墨西哥、智利等国也都陆续建立了规模不等的种子库,收集保存野生植物的种子。截止 2009 年 9 月,英国千年种子库已收集保存约 24 200 种野生植物的种子,约占全球种子植物物种数的 10%,下一阶段目标是力争在2020 年前通过低温储存种子的方式,使全球四分之一的野生植物物种得到有效的收集保存。

近10年来,中国政府对野生植物种质资源

的调查、收集和保存也给予了高度的关注和大力 的支持。通过科技部国家自然科技资源共享平台 和科技基础性工作专项, 先后启动了"重要野生 植物种质资源采集保存技术规范和标准研制及整 合共享"、"非粮柴油能源植物与相关微生物资源 的调查、收集与保存"、"青藏高原特殊生境下野 生植物种质资源的调查与保存"、"东北森林植物 种质资源专项调查"等多个项目,这些项目均涉 及野生植物种质资源现状的调查、评价和种子的 收集保存。2009年在昆明建成的国家重大科学工 程——"中国西南野生生物种质资源库",进一 步推动了我国野生生物种质资源的收集、保存、 研究和利用。该项目计划于2020年前收集保存 各类野生生物种质资源 19 000 种, 190 000 份, 其中包括10000种,100000份野生植物的种子。 截止 2012 年 12 月,中国西南野生生物种质资源 库已收集保存8141种(不含种下分类单元)的 野生植物种子,总计57618份,初步建立了我 国野生植物种子采集保存技术体系,成为我国战 略性生物资源收集保存的重要组成部分。

规范地开展野生植物种子的采集保存是植物 多样性迁地保护的重要手段之一, 也是全球战略 生物资源收集和保存的核心工作。世界主要发达 国家在建立野生植物种质资源收集保存设施的同 时,也已为本国野生植物种子的收集保存制定了 相关的策略和技术规范。我国野生植物种子采集 和保存的理论和技术研究起步较晚, 但随着国家 各类项目的实施以及中国西南野生生物种质资源 库的运行, 迫切需要针对我国国情制定切实可行 的采集保存技术规范。采集高质量的种子及其相 关信息是植物种质资源长期保存和后续利用的关 键,作者根据近十年来的实践经验,结合国内外 同行的研究进展,编写了野生植物种子采集技术 规范、旨在为我国植物种质资源收集、植物多样 性保护和引种驯化等领域的研究实践提供参考和 指导。

# 1 采集单元

采集单元 (Collection unit) 是指采集样品及 其对应或相关的其他实物材料和信息的集合。采 集单元包括的实物和信息类别取决于采样目的。 例如,采集植物 DNA 材料时,除采集凭证标本 外,还需记录相关的野外信息,DNA 材料、凭证 标本和信息都对应相同的采集编号,同为一个采 集单元。英国千年种子库要求在进行种子采集时, 每份种子都需有对应的凭证标本、野外数据和图 片信息。澳大利亚国王公园和植物园(Kings Park & Botanic Garden)在收集保存陆生兰科植物的种 子时,也收集土样用以分离、保存目标物种的共 生真菌,每份兰科植物种子除采集了相关的标本 和野外数据外,还有对应的共生真菌菌株。总的 来说,一个采集单元中包括的实物和信息组成部 分越多,越能增加采集样品的利用价值。

根据国内野生植物种子采集保存的实践经验和学科的发展趋势,建议一个采集单元应至少包括种子、相关的野外数据、凭证标本、DNA 材料和图像,为采集保存的种子样品在后续的研究和利用时,提供丰富的实物材料和相关信息。以下将对上述采集单元中各个组成部分的采集技术规范和标准,分别进行阐述。

# 2 野生植物种子的采样策略

### 2.1 一份种子的最低种子采集量

一份种子 (Seed collection, Seed accession) 通常指某一时间点在特定居群内采集的同一物种不同个体的种子集合。采自不同居群的同一物种的种子由于所代表的遗传结构不同,不可混合后成为一份种子进行保存。最低采集量取决于采样目的,获取某个物种的 DNA 序列只需几粒种子,植物园引种栽培需几十粒或几百粒种子,用于生态恢复项目的种子量往往达几千或上万粒。英国千年种子库建议,如果一份种子的数量达到 10 000粒以上,将有足够的种子用于长期保存和利用(表1),我们建议一份种子应采集至少2500粒。珍稀、濒危物种通常是制定种子采集计划时的目标物种,但由于珍稀、濒危物种个体数量少、居

群量小,分布范围狭窄等因素,往往不能获得大量的种子。因此,珍稀、濒危物种种子的最低采集量应不少于恢复该物种一个野外居群的最低种子量,即每份种子最少为500粒。特殊情况下,若重要或特有物种的种子最低量,也可根据实际居群个体量,由采集者或专家具体确定可以对这些物种进行分期、多次的采集来满足其他用途的种子量,但不同时期采集的种子应作为不同批次的种子份,单独编号后分开保存。

#### 2.2 采样的居群数和个体数

目标物种的拟采集居群数和个体数是由采样目的来决定的。大多数情况下,种子采集的目的是保护植物多样性或收集保存种质资源。因此,拟采集种子的样本应最大程度地代表目标物种的遗传变异程度,即等位基因多样性(Allelic diversity),同时兼顾物种的遗传分化程度,使目标物种的一些特有等位基因,或显著进化单元(Evolutionarily significant unit)得到有效的收集保存。采样居群的等位基因多样性程度越高,越能代表采样居群内的个体变异和遗传多样性,越具保护价值。若能在采样前预先了解目标物种的遗传多样性和遗传结构,无疑对制定该物种的优先采集策略具有指导性的意义。但大规模的野生植物种子采集,往往无法获得每个物种的遗传多样性信息或对其开展遗传多样性的研究(Way, 2003)。

不同的研究中,植物居群的定义不尽一致(Waples 和 Gaggiotti, 2006)。本文所指的居群是在特定时间和地理分布中同一物种的个体集合。划分不同的居群时应考虑可能对物种间基因流造成影响的因素,简单来说包括地理隔离(如,高山、江河)、传粉机制(有些传粉昆虫的活动范围可达5公里)以及种子的传播方式等,详细分析阻碍种内遗传多样性交流的原因,对野外采集时准确界定居群的范围非常关键。

表 1 不同用途的种子需求量

Table 1 Seed quantities required for different purposes

| 用途 Activity  | 所需种子量 Seeds required            |
|--|---------------------------------|
| 恢复野生居群 (Base collection for recovery of the wild population)             | 至少 500 粒 (At least 500 seeds)   |
| 制定萌发方案 (Developing germination protocol)                                 | 100 粒 (100 seeds)               |
| 储存期内(200 年)的活力检测(Viability monitoring in anticipated 200 years lifespan) | 650 粒 (650 seeds)               |
| 复份保存 (Duplication at another seed bank)                                  | 至少 1150 粒 (At least 1150 seeds) |
| 其他用途(科学研究、生态恢复、种群回归等)  | 至少 5000 粒 (At least 5000 seeds) |
| (Distribution to research, restoration, species re-introduction, etc. )  |                                 |

在植物种质资源收集保存的实践中, Marshall 和 Brown (1975) 指出应更多关注物种的遗 传变异程度。对农作物采样时,理想状况下,每 个物种采集50个居群可以完全代表该物种的遗 传多样性 (Brown 和 Marshall, 1995), 但这样的 采样策略在对野生植物,特别是珍稀、濒危和狭 域分布物种的取样时难以满足。Centre for Plant Conservation (1991) 建议即便是广布种,选取5 个居群已足够代表其遗传多样性。Brown 和 Briggs (1991) 建议居群的取样数不超过5组 (Cluster),每组应选取来自不同生境或气候带的 1~2个居群,即所选取的5~10个居群最好能 充分代表该物种的不同生态型。现有的研究结果 表明,少量的居群即可代表一个物种的遗传多样 性,如对 Baptisia arachnifera 居群的遗传多样性 研究表明, 2 个居群的取样就可包括其 10 个居 群 99% 的遗传变异 (Ceska 等, 1997)。夏腊梅 (Sinocalycanthus chinensis) 的迁地保护取样只需 6个居群,每个居群取9~10个个体,即可代表 该物种天然居群 95% 以上的遗传组成(陈香波 和田旗, 2010)。毛红椿 (Toona ciliata var. pubescens) 只需选择3个天然居群即可包括该物种 遗传变异的 97.5% (刘军等, 2013)。

对一个野生居群内适当数量的个体采集,即可获得该物种大部分的遗传变异。如果在条件(时间、经费)允许的情况下,应对有较强地理隔离、形态上具有显著变异的居群或受不同生态因子影响的居群,增加采样居群的数量以收集更多的遗传变异信息,包括一些特有等位基因。自交植物物种居群间的遗传变异通常高于居群内的变异,应尽可能增加采样居群的数量。在确定居群的取样数目时,也应充分考虑目标物种的分布区域,选择的居群应尽可能覆盖该物种的整个分布区,均匀取样(Brown和 Marshall, 1995; Way, 2003)。

一个居群内最佳的取样个体数要包括该物种95%以上基因频率大于0.05 的等位基因。在居群水平上,物种的繁育系统仍然是影响物种种间遗传变异的最重要因素之一,理论上,对于严格异交的物种,随机采集30个个体即可达到上述的要求,严格自交的物种需要采集59个个体。如果无法确定目标物种的繁育系统,一个居群的

取样个体数应不少于 50 个个体 (Brown 和 Marshall, 1995)。

因此, 以收集保存野生植物种质资源为目标 的种子采集,采样原则是至少采集保存一个野生 居群,如果居群内物种的个体数量较多,每个居 群至少采集50个个体。采样的居群数量和个体 数量越多, 获取的物种遗传多样性信息也越多, 特别是居群间或居群内个体形态变异较大的物 种、严格自交的物种和一年生草本或短命多年生 的物种。通常情况下,同一居群中采自不同个体 的种子可以混合保存,但对于形态变异明显的个 体 (如果实的颜色),需要单独采集保存。一些 极度濒危的物种, 由于野生状态下的个体数量非 常少(五针白皮松 Pinus squamata 野生的母株仅 有36株),对其进行种子采集时可以考虑对应 个体单独标识保存,以便后续的遗传多样性研 究、育种和物种回归,具体的采集保存方案视研 究目的而定。

# 3 野生植物种子采集规范

#### 3.1 采集前调查评估

在野外开展种子采集时,种子的状况(成熟程度、数量)是否已达到或满足采集的目的和要求通常不易判断。这里提供的技术路线和评价指标,将帮助采集者在种子采集前对采样居群进行评估,最大程度地提高采集时种子的质量和数量,以便达到采集的目标。

3.1.1 确定目标 准确地鉴别目标物种是种子采集过程中最重要的环节,采集者必须具备识别目标物种的能力,特别是在植物多样性热点地区或某些类群的多样化中心开展种子采集时,常常会遇到目标物种的近缘种或相似种同域分布。例如,我国横断山地区是很多植物类群的多样化中心,作者在云南西北部高山草甸进行种子采集时,对2m×2m的样方内调查时发现了5种马先蒿属(Pedicularis)植物,其中的3个种(P. cephalantha, P. siphonantha var. delavayi, P. rhinanthoides)很难通过果期时的外部形态特征进行区分。因此,采集者需要能够清楚的区分目标物种及其近缘种或相似种。

在条件允许的情况下,应预先对采集路线进行勘查(最好在花期),进一步确认目标植物及

其居群的大小和具体位置,估计种子成熟的时间。若无法提前勘查采集线路,应在采集前熟悉目标物种的鉴别特征,可通过参考馆藏标本、植物志或咨询专家,掌握目标植物的主要特征,或邀请分类学家或当地专家参与种子采集。野外采集时携带有关的鉴定书籍、植物志或标本的照片,也可以为确定目标物种提供参考。

- 3.1.2 评估居群 为确保每份种子都尽可能代 表采样居群中的个体变异或遗传多样性,需要采集的植株数应不少于 50 个个体 (Brown 和 Marshall, 1995)。在开始种子采集前需要对目标物种的居群范围、结实个体的数量等进行调查和评估,并记录相关的信息(图1)。
- 3.1.3 评估可采到种子的品质和数量 用于长期保存的种子,需要使萌发率(Germinability)、脱水耐性(Desiccation tolerance)和种子寿命(Longevity)三个方面都达到最大值。通常种子的萌发能力和脱水耐性随着种子的发育而逐渐增加,

| 中国西南野生生物种质资源库种子采集前调查表                   |                                    |  |
|---|------------------------------------|--|
| 物种                                      |                                    |  |
| 科                                       | <u>b</u>                           |  |
| 日期                                      |                                    |  |
| 种 GPS                                   |                                    |  |
| 居 <b>群评估</b> 采集的目标物种是否已确定,能否与近缘类群区分开: 是 |                                    |  |
| 调查面积                                    | × (m²)                             |  |
| 居群内目标物种的植株个体数                           |                                    |  |
| 种子可获得性评估(用%标记)                          |                                    |  |
| 营养生长的个体比例(%)                            | *用下列形态学指标评估目标物种是                   |  |
| 繁殖生长的个体比例                               | 否处于种子自然散布阶段:                       |  |
| 开花(%)                                   | ● 一些种子已经散布                         |  |
| 种子未成熟(%)                                | <ul><li>种子与果实分离</li></ul>          |  |
| 种子自然散布期(%)*                             | <ul> <li>果实的颜色、结构和气味的改变</li> </ul> |  |
| 种子已经散布(%)                               | <ul><li>◆ 种子变硬的程度</li></ul>        |  |
|   | ● 种了的颜色变化                          |  |
| 可进行种子采集的植株个体数:                          |                                    |  |
| 种子状况                                    |                                    |  |
| 剪切测试后,种子饱满程度状况,记录以下                     | 三种状况的百分比                           |  |
| 饱满种子(%)                                 |                                    |  |
| 不育种子(%)                                 |                                    |  |
| 病虫害种子(%)                                |                                    |  |
| 种子的可获得量<br>平均每个果实的种子数量                  |                                    |  |
| 平均每个植株自然散布的果实数量                         |                                    |  |
| 种子自然散布状态下,能收集到健康种子的数量                   |                                    |  |
| 如果种子尚未成熟,估计种子成熟的时间是                     |                                    |  |

图 1 种子采集前调查表

Fig. 1 Pre-collecting assessment checklist

并在进入脱落成熟期后达到最大值,而种子寿命则在脱落成熟期和散布期之间,即种子开始自然散布时达到峰值,这也是采集种子的最佳时期,在此之前或之后进行采集都未能使种子寿命最大化(图2),将会不同程度的影响种子的贮藏时间。

对大多数野生植物来说,判断种子的最佳采集时机非常困难,同株植物由于开花结实的时间不同,同一果序或植株可能包括若干个发育阶段的果实,但通常可借助种子或果实的外部形态、颜色、硬度等特征的变化来判断果实或种子是否成熟。如浆果类的物种在种子或果实成熟时通常果实的颜色会变得非常鲜艳,果实的质地也变软,一些干果类物种的果实则会开裂或开始散布,还有一些植物(如豆科大部分物种)的种子成熟后变得非常坚硬。

此外,有些植物的种子败育率较高,如禾本科、菊科、莎草科和凤梨科的植物都可能产生大量的空瘪种子,而豆科植物的种子常遭虫蛀,因此,在种子采集前应当采取相应的方法进行检验。在野外可使用"剪切法"(Cut test)对种子的空瘪率、成熟程度和饱满度进行检测。一般在同一居群随机选取 10~20 粒种子,用剪刀、枝剪、指甲剪等工具对种子进行(横切和纵切)解剖,评估未成熟、空瘪、发育不良和虫蛀的种子数量。对较小的种子进行检测时,可以将其置于胶带上解剖,或用指甲将种子压碎后,用 10倍或 20 倍的放大镜查看种子的发育状况。用"剪切法"检测时,若一个居群内不育和病虫害的种子达到 30%,则应放弃对该居群的种子采集,或考虑通过增加采集量来弥补。

采集前,首先评估处于或接近种子自然散布期的植株数。通过取样,估计目标植物单株的结实量和每个果实的种子量,若目标物种为非珍稀濒危物种,在野外可采集的种子量小于2000粒时,应考虑寻找更大的居群进行采集或放弃。此外,采种时要尽可能减少对目标物种生存或繁殖更新的影响。一般采种量不要超过当时可获得种子量的20%,除非确信过量采集不会影响该居群的自然更新。采集珍稀濒危植物时,最小的种子采集量为500粒,但也要兼顾"20%可获得种子量"原则、避免过度采集对居群的影响。

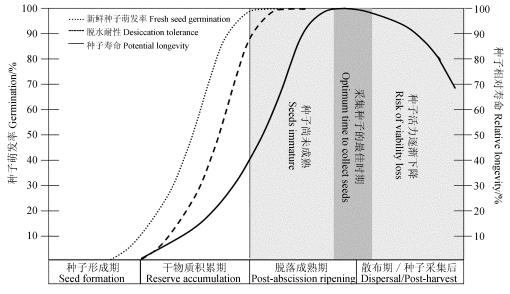


图 2 种子发育过程中的萌发率、脱水耐性和种子寿命的变化

Fig. 2 Aquisition of seed germinability, desiccation tolerance and potential longevity during development (Adapted from Probert and Hay, 2000)

对于初次开展种子采集的科研人员,建议使用"种子采集前调查表"(图1)来帮助对目标物种和采样居群进行评估,以便高效地完成种子采集。

#### 3.2 种子采集的方法和技巧

常规的种子采集方法是徒手或使用枝剪等工具进行采集(表2)。由于种子和果实的类型各不相同,采集者需根据实际情况随机应变,针对不同的采集对象制定具体的采集方法。如可以直接采集整个成熟的果序,通过摇动使成熟的种子或果实脱落,或对易散布脱落的种子或果实进行套袋收集等,更多的种子采集方法和技巧可以参考其他的种子采集指南(Schmidt,2000; Way,2003)。

要获得健康、高活力的种子,最好直接从植株上采集,但野外采集时经常可以在植株周围找到已散落的果实或种子,这类种子可能大部分已遭受不同程度的真菌侵蚀或虫蛀,或是几个月前散布的,种子的活力和储藏寿命都已开始下降,一般不建议收集已散布的果实或种子,除非能确定地上的果实或种子是近期才散布脱落,且种子尚未严重霉变或遭受虫蛀,并无法通过其他途径获得新的种子。

常用的采集容器是布袋和纸袋或纸信封。纸袋和布袋均可用于收集保存成熟的干燥果实或种

子,但在雨季或潮湿的环境下进行采集时,由于 采集的种子和果实湿度较大,纸袋受潮后容易破 损,最好使用布袋。有的种子或果实具芒或钩状 附属物(如苍耳属 Xanthium、琉璃草属 Cynoglossum、鬼针草属 Bidens 等),容易附着于布袋 上而不易取下,采集时最好使用纸袋包装。切忌 将非浆果类的果实,或已成熟的种子和果实贮存 于塑料袋中。

若有多个采集人员同时开展一个目标物种的 采集,种子在汇总前需确认每个采集者获得的种 子都来自同一个物种,且种子采集后应立即编 号,并在种子袋里放入写有采集编号的标签。

#### 3.3 种子采集后处理

采集后的种子如果没有进行及时有效的处理,种子将开始老化、脱水或腐烂霉变,严重影响种子的生活力和寿命。在野外需要根据种子的储藏特性和采样目的进行不同的处理,尽可能让种子保持最高的生活力。被广泛接受的种子储藏行为类型有正常型种子(Orthodox seed),中间型(Intermediate seed)和顽拗型种子(Recalcitrant seed)三种。正常型种子可以干燥至含水量达2%~5%而种子活力不受影响,且种子寿命随种子含水量和储存温度的降低而增加;顽拗型种子不耐过度脱水,通常当种子含水量低于12%~31%时就会死亡;中间型种子的脱水耐受

性介于以上两种类型之间,但种子在低温时将受到生理上的损伤(Hong等,1996)。由于种子的储藏行为决定了种子寿命与水分有密切关系,需要对采集后的种子进行适当的处理,以保持种子的活力。

#### 表 2 野外采集种子所需工具

Table 2 Equipment suggested for seed collecting

#### 种子采集 Seed collecting

望远镜 Binoculars

小枝剪 Secateurs/Hand pruner/Clippers

高枝剪 Tree pruner

放大镜 Hand lens

帆布/橡胶手套 Canvas/Linen gloves & Household rubber gloves

布袋 Cotton bag

纸袋/信封 Paper bag/Paper envelope

塑料自封袋 Self-sealed plastic bag

筛网 Sieve

塑料号牌/标签 Plastic/Paper tag

#### 凭证标本采集 Voucher specimen collecting

标本夹 Herbarium press & Straps

瓦楞纸 Ventilated cardboard

报纸 Newspaper

号牌 Plastic/Paper tag

暖风机 Fan heater/drier

撬刀 Digging knife/Soil knife

#### 数据和图像记录 Data and image recording

采集前调查表 Pre-collecting assessment checklist 野外采集记录本/记录表 Field data notebook/sheet GPS 定位仪 Global Positioning System unit

相机 (及配件) Camera & accessory

#### DNA 材料采集 DNA sampling

变色硅胶 Silica gel

密封盒/塑料自封袋 Sealed box/Self-sealing plastic bags 透气小纸袋/茶包袋 DNA sampling bag/small paper bag

## 其他 Other equipment

急救包 (含药品) First aid kit & Medicine

包装带 Packing string/Twine

封口胶带 Adhesive tape

笔记本电脑 Laptop/Data storage device

电源接线板 Extension socket

地图 Map

铅笔、记号笔 Pencil & Marker pen

个人物品 Personal items

**顽拗型和中间型种子的采集后处理** 与正常型种子相比,顽拗型和中间型种子对脱水敏感,种子的千粒重较重,有的物种在果实的形态结构上具有保持水分的特殊结构,通常不易快速失水,而过度失水和低温对顽拗型种子和中间型种

子的活力会产生致命的影响。因此,这两类种子 采集后应尽量保持在果实内,或用密封性好的塑 料袋或容器包装,以保持种子的水分。

由于湿度过高将导致种子或果实表面携带的真菌快速繁殖,真菌感染或果实霉变都将对种子的活力产生严重的影响(Calistru等,2000),可以用1%的次氯酸钠溶液或稀释后的日用漂白液(1:3)对种子或果实表面进行消毒,最好能经常查看,霉变严重的种子或果实应当尽快清除。此外,一些顽拗型种子没有休眠期,如果条件合适,短时间内就会萌发,如龙脑香科 Shorea trapezifolia 的果实在脱落后 4~10 天内种子就开始萌发(De Zoysa 和 Ashton,1991)。因此,在野外考察时通常很难满足顽拗型和中间型种子所需的保存条件,且对这类种子的管理增加了额外的工作量,建议采集后尽快运至目的地进行相应的处理或保存。

正常型种子的采集后处理 正常型种子由于耐受干燥和低温,可以用常规的种子库保存条件(15℃和15%空气相对湿度干燥后,-20℃保存)进行长期保存,是野生植物种质资源采集和保存的优先采集对象,国际上各类种子库采集保存的对象主要是具正常型种子的物种。

通常认为成熟的正常型种子在高湿的条件下 将开始老化过程,即便采集到的种子已完全成 熟,处于种子散布期,种子的平衡相对湿度 (Equilibrium Relative Humidity, eRH) 仍可能大 于85% (或15%~20%的含水量), 浆果内的 平衡相对湿度通常接近100%。正常型种子采集 后在野外较为"安全"的平衡相对湿度为50% 左右,或约12%的含水量(该指标随种子的含 油量而有变化)(Probert, 2003)。因此,采集者 需要根据种子或果实的含水量状况, 采取相应的 措施。条件允许的话,应根据种子的大小选择不 同孔径的筛网,尽快对过熟的浆果和采集时受损 的果实进行清理,然后置于筛网或滤纸上荫干。 成熟的果实或种子要保持透气干燥,干燥的种子 避免回潮,必要时需要使用硅胶、木炭等干燥剂 降低种子的含水量 (Probert, 2003)。

多种方法可对种子的含水量进行测定 (Probert 等, 2003), 其中电子湿度计可直接和准确的监测已采集种子的含水量变化。在野外若无法使

用电子湿度计,也可通过其他途径或指标估计种 子的潮湿状况,并采取相应的对策。

- (1) 使用小型家用湿度计, 估测空气的相 对湿度;
- (2) 了解天气情况,雨后采集的种子通常比较潮湿;
- (3) 观察种子和果实形态,闭合型果实中的种子通常具有较高的含水量;
- (4) 刚刚从浆果中清理出来的种子,往往湿度很高。

以上这些情况中种子的平衡相对湿度一般都 大于50%,需要尽快摊晾以减少水分,一般可 以进行如下处理:

- (1) 将种子铺散于报纸上,置于阴凉处阴干;
- (2) 将种子袋悬空放置, 以增加空气流通;
- (3) 夜间空气湿度回升时,将已干燥的种 子重新装回袋内,减少回潮;
  - (4) 将种子铺散后,置于有空调的房内。

对于干燥的种子,只需将种子袋散放,以利于 通风,或置于室内或树荫下保持荫凉。需要注意的 是不能通过直接加热或在烈日下暴晒的方式对种子 进行干燥,过高的温度将使种子失活。种子在铺 晾干燥和重装过程中也要保证带有正确的标签。

如果在野外无法满足以上条件,必须尽快将 种子送回目的地进行干燥,以确保种子处于安全 的湿度条件下。

未成熟种子或混合种子的处理 通常未发育成熟的种子尚处于干物质积累阶段,在萌发率、脱水耐性和种子寿命三个方面都没有达到最佳(图2),这将严重影响种子的储存时间。虽然一些物种未成熟的种子仍然表现出很高的初始生活力(Initial viability),但未成熟种子的寿命与自然成熟的种子相比已大大下降,种子储存的时间也极度缩短(Hay和 Probert, 1995)。因此,在开展以种质资源保存为目标的采集时,最好不要采集尚未成熟的种子。

由于很多物种在同一个体上种子或果实的成熟时间不一致(如无限花序),同一居群不同个体间也普遍存在物候上的差异,采集到不同成熟阶段的种子往往在所难免。另外,在一些特殊的情况下,如对交通极度不便的地区开展种子采集,或某物种在野外面临急迫地威胁和干扰,种

子或果实完全成熟时已无法再进行采集等,需要 尽量把握有限的采集时机,也会导致采集的种子 尚未成熟或仅有部分种子成熟。

对未达到自然散布阶段的大豆(Glycine max)、挪威槭(Acer platanoides)、毛地黄(Digitalis purpurea)、鸭茅(Dactylis glomerata)等物种的研究表明,经过自然干燥或延迟干燥时间等方式处理的未成熟种子或果实,其种子的脱水耐性和种子寿命都得到了显著的提高(Rampton 和 Lee,1969;Adams 等,1983;Hay 和 Probert,1995;Hong 和 Ellis,1997)。此外,在对毛地黄和爪哇木棉(Ceiba pentandra)种子后熟处理的研究中发现,后熟时将未成熟的果实保持在相对湿度较高的环境下进行预干燥(Pre-drying),也可以显著提高种子的储藏寿命(Hay 和 Probert,1995;Lima 等,2005)。但一些物种的种子,如杜鹃属(Rhododendron)在高湿环境下后熟的时间过长,会导致已经成熟的种子开始老化(Hay 等,2006)。

总之,未成熟的种子或果实可以通过适当的后熟处理方法,提高种子的成熟程度,增加种子的脱水耐性和寿命,大大延长种子的储藏时间。但后熟过程也需要实时监测,避免过度后熟导致种子老化,特别是短命种子或小型种子。相应的处理方法包括:

- (1) 如果未成熟的种子量超过总采集量的 10%,在时间允许的情况下,应将已成熟和未成 熟的种子分开处理,以避免已成熟种子的老化;
- (2) 采集时可将未成熟的果实保留于枝条上,或将未成熟的种子保留于果实中,继续后熟;
- (3) 应保持较高的湿度以便种子继续发育成熟,可将果实置于透气的塑料袋或纸箱(纸盒)中,温度控制在20~25℃间,成熟的果实或种子尽快分离后干燥,避免种子老化;
  - (4) 定期检查,增加透氧量,防止霉变。

#### 4 凭证标本采集和鉴定

#### 4.1 凭证标本的采集

一份采集完整、具有鉴别特征的凭证标本对于物种的鉴定非常重要。每号种子应采集至少3份凭证标本,用于物种鉴定和国内外标本馆之间的交换。采集的凭证标本最好能反映物种的重要鉴别特征,如根、茎、叶、花、果实、种子等,

由于不同的植物类群其主要分类鉴别特征不尽相同,具体可以参考各类植物志或《标本馆手册》(Bridson和 Forman, 2010)。

在开展种子采集时,一些生长周期较短的物 种(如分布于高海拔或高纬度地区的物种)往 往无法获得具有显著分类学特征的个体进行标本 压制,但应尽可能采集相关的材料,可用果枝、 果实或种子等压制标本,已枯萎或萎蔫的叶片可 以用水浸泡后再制作成标本, 为后期的物种鉴定 提供尽可能多的信息或作凭证。对于体型较大的 植物,尽量确保采集的若干份凭证标本来自同一 植株或同一采样居群:个体较小的物种(如星 叶草 Circaeaster agrestis、高山的嵩草类 Kobresia spp. 、龙胆属 Gentiana spp. 等),最好一份标本 采集多个植株,以便铺满一张台纸,并确保这些 植株均来自同一个采样居群。若采集的对象是一 些特别稀有的物种,采集凭证标本可能会严重影 响其种群的繁衍或更新,可以考虑减少采集凭证 标本的份数或仅在野外拍摄详细的植物特征照片 作为凭证。

采集后的凭证标本应尽快制成干燥的腊叶标本以防止霉变,更多有关标本采集、制作和干燥的方法可参考《标本馆手册》(Bridson 和 Forman, 2010),采集工具可参考表 2。

# 4.2 凭证标本鉴定信息的管理

标本的鉴定信息包括采集物种的科、属、种和种下等级,并按拉丁语正规写法书写。种(Species)按双命名法的格式书写,即"属名+种加词"及命名人,如 Circaeaster agrestis Maximowicz,并增加科中文名和种中文名,以便国内学者之间的交流。

植物物种鉴定时应参考最新的类群专著和分类学修订文献。当最新的文献和工具书无法获取时,以当时可获得的工具书为主要参考资料进行鉴定。如中国西南野生生物种质资源库建议种子植物的物种鉴定名统一以"Flora of China (《中国植物志》英文版)",或其出版后新增或修订的类群为准。

样品鉴定人为该标本的具体鉴定人,鉴定日期是指鉴定该标本的具体日期,二者书写格式参见第5部分"野外数据"中"采集者"和"采集日期"所述格式;最后应列出鉴定标本时所

参考的工具书名称,以供他人参考。

凭证标本经过专家鉴定后,需附上鉴定标签。鉴定标签的形式可根据项目要求进行设计,但主要包括的信息除物种的科中文名、科拉丁名、种中文名、种拉丁名、鉴定人、鉴定日期等外,还应包括采集编号,以免放置或粘贴鉴定标签时,标本与鉴定标签的错误匹配,引起混淆。鉴定标签的格式可参考图3。

COLL. No.: 12CS5408 Ranunculaceae 毛茛科

Anemone howellii Jeffrey & W. W. Smith 拟卵叶银莲花

**Det.:** 蔡杰 (CAI J.) 2013.1.29

图 3 标本鉴定标签式样

Fig. 3 Example of the identification label

# 5 野外数据

详实的野外采集信息将大大提高种子的利用价值,如记录采集种子的地点、目标物种在原生地受干扰的状况、采样植株的数量、采样居群的(面积)大小等,这些信息可为今后该物种分布状况的监测、保护策略的制定、土地管理和种子的使用提供重要的信息。目标物种在压制标本后容易丢失的分类学特征(如花、果颜色,气味,植株高度等)也要记录,以便对物种的准确鉴定。野外数据中具体应包括的信息字段取决于采样目的,常用的信息字段包括如下:

采集编号 (Collection number): 指种子在野外采集过程中由采集者对每份样品给予的编号。每份种子对应唯一的采集编号,且采集编号应尽可能根据项目的要求易于辨别,简洁明了。建议使用项目负责人的姓全拼+名字拼音首字母+三位数字(流水号)的形式,如张挺项目组负责的种子采集可编号为: Zhangt001,或项目参与单位的拼音首字母+三位数字(流水号)的形式,如由高黎贡山国家级自然保护区负责的项目可编号为: GLGS001。最好不使用仅包括数字的采集编号,以免与其他项目的采集编号重复,而造成混淆。此外,数字与字母之间最好不要添加"空格"或"连字符"等额外的字符,以免造成后期数据电子化和数据库管理时的不便。

采集者 (Collectors): 指实际采集种子及相关材料的人员。英文书写方式按"姓在前,名

在后"的方式,建议姓全拼且全部大写,名缩写为大写的拼音首字母。

采集时间 (Collection Date): 指实际开展采集的日期,需要包括年、月、日,如:采集时间为2011年9月18日,记录为"2011-9-18",也可根据项目的要求变换时间的格式。

国家 (Country): 采集地所属的国家。

省 (Province):填省、自治区和直辖市一级,如北京市 (Beijing),云南省 (Yunnan),西藏藏族自治区 (Xizang)。

**地区 (Prefecture/Region):** 行政区一级, 如昆明市 (Kunming), 大理 (Dali) 等。

区县 (Country/District): 县区一级, 如香格里拉县 (Xianggelila)、隆阳区 (Longyang)、安宁市 (Anning) 等。

上述行政区划的划分标准和各级行政区划的 英文拼写可以参考"中国行政区划网"(www. xzqh. org)。

具体地点(Locality):记录具体的采集地点,至少到乡镇级或山头,最好能记录较为显著的参照以提供参考,如:赤土乡德沙村后山;石楼乡土地垭村青龙嘴。如果是公路边沿途采集,可记录为:国道 G318 芒康县城至盐井途中约 10 km 处路边山坡;白马雪山垭口至德钦途中约 2 km 附近。

经纬度 (Longitude/Latitude): 经纬度的格式可使用度数表示,小数点后保留 4 位,如102.3956°E,29.4300°N;或用"度-分-秒"的格式表示,如102°23′44″E,29°25′48″N。使用全球卫星定位仪测量经纬度时,由于在不同的地图基准 (GPS datum)下所测的经纬度数值略有差异,且各个国家和地区根据需求所使用的GPS地图基准也不尽不同,建议统一使用国际上广泛使用的"WGS84"作为测量时的地图基准。

海拔 (Altitude):单位"米",填写数值。 生境 (Habitat):尽可能记录所采集物种的

原生地生境类型和小生境,如常绿阔叶林下溪边岩石缝中,高山杜鹃灌丛,干热河谷江边乱石坡等。

伴生物种 (Associated species): 记录所采集物种原生地中的建群种、优势种、标志种,建议记录 3~5个伴生物种,如不能准确鉴定到"种",记录到"属"一级即可。如: 在昆明西

山采集云南勾儿茶,原生地建群种为云南油杉, 林下二层伴生香叶树、马桑、石海椒。伴生物种 可记录为:云南油杉,香叶树,马桑,石海椒。

影响因子 (Modifying factors): 记录所采集物种原生地中正在经历的或可能存在的人为或非人为影响因子。这些影响因子往往会导致该物种的生境退化或丧失,最终导致物种居群范围的缩小或消失,通常包括放牧 (Grazing),耕作 (Farming),砍伐 (Felling),修路 (Road building),采矿 (Mining)等。

**凭证标本份数 (No. of voucher)**:记录采集的标本份数。

**采样面积 (Area sampled)**: 估计并记录采样区域的面积,使用公制面积单位,建议统一使用"平方米"( $m^2$ );或记录为采样区域的"长×宽"距离数值,如 25  $m \times 10 m$ (米)。

**采样植株数 (No. of plant sampled)**:估计并记录采样的植株个体数。

发现植株数 (No. of plant found): 估计并记录采样居群内发现的植株个体数,包括仅有营养生长的个体数。

采样居群结实率 (Percentage population produce seeds): 估计并记录采样居群中,已结实或其他繁殖生长状态的植株个体数占整个居群个体数的百分比(%)。

植物习性 (Plant habit): 乔木 (Tree),灌木 (Shrub), 半灌木 (Subshrub), 一年生草本 (Annual herb), 多年生草本 (Perennial herb), 腐生草本 (Saprophyte), 草质藤本 (Climbing herb/Herbaceous vine), 木质藤本 (Woody vine/Liana), 附生植物 (Epiphyte), 寄生植物 (Parasite), 肉质植物 (Succulent) 等。

植株高度 (Height): 记录所采集物种的植株高度或采样居群内不同个体植株高度的变化范围,使用公制长度单位,建议统一使用"米"(m)。

其他描述 (Other description): 用于描述 所采集物种压制成干标本后会丢失的重要鉴定信 息,如乔木的胸径,花、果的颜色和气味,果实 类型等。

野外鉴定 (Field identification): 在野外考察时对已采集物种的暂定名或科名、属名。条件允许的话,也应记录该物种的当地俗名。如: 禾

本科一种,老牛筋(当地名)。

用途(Use):对用途的记录可为该物种今后的开发和利用提供第一手的参考资料,用途的信息来源既可通过对当地群众的调查,也可根据采集者的经验来判断。常用的用途类型包括:淀粉(Starch),牧草饲料(Forage),树脂(Resin),木材(Timber),纤维(Fiber),油脂(Fat),观赏(Ornamental),药用(Medicine),色素染料(Pigment),香料(Spice),蜜源(Honey source),生态(Ecological use),鞣质(Tannin),绿肥(Green manure crops),生物农药(Green pesticide)等。

若种子采集的目的是植物引种驯化或大规模生态恢复,还建议记录与物种生长环境因子相关的信息字段,包括土壤母质、土壤颜色、土壤pH 值等。建议采集者根据采样目的,设计野外采集记录表或采集记录本,以便在野外及时记录相关的采集信息,样式可参考"种子采集数据表"(图4)。

整理好的采集信息按照一定的格式排版后,制作成采集标签,与标本一起进行装订。采集标签的格式可参考图 5,内容不需包括所有的采集信息,只提供与标本鉴定相关的信息即可。

# 6 DNA 材料

随着分子生物学技术的快速发展, DNA 条 形码技术已大量应用于生物物种鉴定和分类。由 于很多植物类群的形态分类学性状是基于营养体 (芽、小枝或叶片) 和花部形态特征, 而在种子 采集时所获得的凭证标本往往无法准确或完全地 反映该物种的分类特征(如兰科、杜鹃花科、 豆科、蔷薇科等),从而导致标本的错误鉴定或 无法鉴定。对此, 传统的解决方案是在花期时提 前(或次年重新)采集具有分类学特征的标本 用于鉴定,或对该份种子进行人工栽培后获得花 果期的标本。前者由于花期标本和种子的采集时 间不同步,特别是目标物种和近缘种同域生长的 情况下,可能导致错误采集,造成更多的混淆。 后一种方案对于需要特殊生长环境(高山冰缘 带)或生长条件(寄生、半寄生植物或与真菌共 生的植物)的物种,往往很难获得成功,上述 两种方案均需要较长的时间周期且需要耗费大量



图 4 种子采集数据表 (样表)

Fig. 4 Example of field data sheet for seed collecting

# 中国西南野生生物种质资源库 Germplasm Bank of Wild Species 采集编号(COLL. No.): 12CS5318 采集日期(DATE): 2012-9-25 采集者(COLLECTORS): 禁杰(Cai J.),张挺(Zhang T.),刘成(Liu C.),郭永杰(Guo Y.J.) 采集地(LOCATION):云南省香格里拉县洛吉乡九龙村至白水台途中约 4km 处 ca. 4km from Jiulong to Baishuitai, Luoji Xiang, Xianggelila, YUNNAN. 经纬度(LAT./ LONG.): N 27°41′35.13″, E100°00′42.65″ 海拔(ALT.): 3188m 生境(HABITAT): 河谷边杨树、冷杉杂木林中 In the mixed forest along the river with Populus sp., Abies sp. 其他(NOTES): 一年生草本,高 0.05-0.06 m. 成熟果实黄色。[种子、DNA已采集] Annual herb. 0.05-0.06 m. Mature fruits yellow. [Seeds & DNA sampled]

图 5 标本采集标签式样

Fig. 5 Example of the collecting label

的人力物力。因此,若能在采集种子的同时,也 收集相应的 DNA 材料,将为后期的物种鉴定提 供来自 DNA 片段的信息,快速地解决物种在鉴 定过程中的滞后,避免重新采集标本可能发生的错误,节约成本。

由于一份种子通常是目标居群中同一物种不同个体的种子集合,采集的 DNA 材料只需来自该采样居群的任意健康个体即可, DNA 材料最好能与凭证标本的个体相对应,若二者无法对应时(凭证标本个体太小或叶片太少,采集 DNA 材料后会影响标本的质量),亦可采集同一采样居群中的其他个体代替,但每个 DNA 采集袋中的DNA 材料需确保来自同一个植株,切忌将不同植株的 DNA 材料混装在同一 DNA 采集袋中。

常规的 DNA 材料制备采集新鲜健康的叶片、花瓣等干燥后即可,通常采集 3~5 g 新鲜叶片,或叶表面积不小于 50 cm² (约等于成年人的手掌面积)(高连明等,2012),将叶片剪成小片或撕碎,去除叶柄或主脉,以便叶片的快速干燥。若无法获得新鲜叶片或花瓣,也可收集少量的种子代替(需确保同一 DNA 袋中的种子来自同一个植株)。采集后的 DNA 材料需使用变色硅胶快速干燥后保存,更多有关 DNA 材料的采集、干燥和保存方法,可以参考其他相关的标准规范(Miller,2006;高连明等,2012)。

# 7 图像

植物的实物图片可以更直观地反映物种在野 生条件下的各种信息, 如各个器官的结构、颜色、 毛被等形态特征, 为后期的物种鉴定和成果展示 提供丰富详实的信息。因此, 在采集种子和凭证 标本的同时, 也应对目标物种的野外状况拍摄彩 色图像, 反映该物种的生长环境(大生境和小生 境)、伴生物种、形态特征(叶、花、果实、种 子等)等信息。此外,也可以对凭证标本的一些 重要分类学性状的显微形态特征(叶片的毛被类 型、种子的微形态等)进行拍摄记录。拍摄的图 片要清晰、突出主体,一般要求: 生境照片1张、 植株1~2张、花部特征、种子(或果实)及其他 鉴定特征照片3~5张,数码图片的尺寸应不低于 300 万像素,或 2144×1424 (1424×2144)。每张 图片按照片拍摄内容进行命名("生境"、"植 株"、"叶"、"花"、"果"),如果照片拍摄的内容 相同,命名时可在照片内容后加数字区分(如: "果1"、"果2"),同一采集编号的物种照片应放 在一个文件夹内,文件夹以采集编号命名。图片和文件夹的命名方式也可以参考其他的图像采集技术规范(高连明等,2012)。

# 8 结语

野生生物种质资源已成为未来生物技术和生 物产业发展的竞争战略要点。未来生物产业,包 括农业、林业、畜牧业、水产业、制药业等领域 的发展将在很大程度上取决于掌握和利用生物种 质资源的程度。中国是全球植物多样性最丰富的 国家之一,保护好这些古老、独特的植物物种, 使丰富的植物种质资源得到充分的利用是我们义 不容辞的责任。2010年10月在日本名古屋联合 国《生物多样性公约》第10次缔约方大会上通 过了《全球植物保护战略 2011-2020》(Global Strategy for Plant Conservation: 2011-2020), 其第 8和9个目标分别明确提出需要使至少75%的濒 危植物物种得到有效的迁地保护,对70%的农 作物及其野生近缘种、具有重要经济价值的植物 进行收集保存(CBD, 2012)。种子的采集保存 不但降低就地保护中潜在自然灾害、人类活动的 风险,同时能在有限的空间里最大限度地保存物 种的遗传多样性,已成为高效率、低成本地开展 植物多样性保护的重要手段之一, 种子的采集保 存技术将继续在植物多样性保护和生物种质资源 的保存利用中扮演重要的角色。

规范地开展野生植物种子及其相关信息的采集,不但有利于我国丰富多样的野生植物种质资源的长期保存和后续利用,对保证我国的生物资源安全、粮食安全、社会经济的可持续发展,以及履行《生物多样性公约》的责任和义务也具有重要意义。

**致谢** 感谢中国科学院昆明植物研究所杨永平研究员的 建设性意见和对本文的修改。

#### [参考文献]

Adams CA, Fjerstad M, Rinne RW, 1983. Characteristics of soya bean seed maturation: necessity for slow dehydration [J]. *Crop* Science, 23: 265—267

Balter M, 2007. Plant science: seeking agriculture's ancient roots [J]. Science, 316: 1830—1835

- Bridson D, Forman L, 2010. *The Herbarium Handbook*, 3rd Edition [M]. London: Royal Botanic Gardens, Kew
- Brown AHD, Briggs JD, 1991. Sampling strategies for genetic variation in ex situ collections of endangered species [A]. In: Falk DA, Holsinger KE (eds.), Genetics and Conservation of Rare Plants [M]. Oxford: Oxford University Press, UK, 99—119
- Brown AHD, Marshall DR, 1995. A basic sampling strategy: theory and practice [A]. In: Guarino L, Rao VR, Reid R (eds.), Collecting Plant Genetic Diversity [M]. Wallingford: CAB International, Oxon, UK, 75—91
- Calistru C, McLean M, Pammenter NW et al., 2000. The effects of mycofloral infection on the viability and ultrastructure of wet-stored recalcitrant seeds of Avicennia marina (Forssk.) Vierh [J]. Seed Science Research, 10: 341—353
- CBD, 2012. Global Strategy for Plant Conservation; 2011-2020 [R].

  Botanic Gardens Conservation International, Richmond, UK
- Center for Plant Conservation, 1991. Genetic sampling guidelines for conservation collections of endangered plants [A]. In: Falk DA, Holsinger KE (eds.), Genetics and Conservation of Rare Plants [M]. Oxford: Oxford University Press, UK, 225—238
- Ceska JF, Affolter JM, Hamrick JL, 1997. Developing a sampling strategy for *Baptisia arachnifera* based on allozyme diversity [J]. Conservation Biology, 11: 1133—1139
- Chen XB (陈香波), Tian Q (田旗), 2010. Study on the sampling strategy of Sinocalycanthus chinensis for ex-situ conservation of genetic diversity [J]. Acta Botanica Yunnanica (云南植物研究), Suppl. XVII: 74—80
- De Zoysa ND, Ashton PMS, 1991. Germination and survival of Shorea trapezifolia: effects of dewinging, seed maturity, and different light and soil microenvironments [J]. Journal of Tropical Forest Science, 4: 52—63
- Dillehay TD, Rossen J, Andres TC et al., 2007. Preceramic adoption of peanut, squash, and cotton in northern Peru [J]. Science, 316: 1890—1893
- FAO, 1997. The state of the world's plant genetic resources for food and agriculture [Z]. Rome
- FAO, 2010. The second report on the state of the world's plant genetic resources for food and agriculture [Z]. Rome
- Gao LM (高连明), Liu J (刘杰), Cai J (蔡杰) et al., 2012. A synopsis of technical notes on the standards for plant DNA barcoding [J]. Plant Diversity and Resources (植物分类与资源学报), 34 (6): 592—606
- Hay FR, Klin J, Probert RJ, 2006. Can a post-harvest ripening treatment extend the longevity of *Rhododendron L.* seeds? [J]. *Scientia Horticulturae*, 111: 80—83
- Hay FR, Probert RJ, 1995. Seed maturity and the effects of different drying conditions on desiccation tolerance and seed longevity in fox-glove (*Digitalis purpurea* L.) [J]. Annals of Botany, 76: 639—647 Hong TD, Ellis RH, 1997. The effect of the initial rate of drying on

- the subsequent ability of immature seeds of Norway maple (Acer platanoides L.) to survive rapid desiccation [J]. Seed Science Research, 7: 41—45
- Hong TD, Linington S, Ellis RH, 1996. Seed Storage Behaviour; a Compendium. Handbooks for Genebanks; No. 4 [M]. Rome; International Plant Genetic Resources Institute, 4—5
- Lima M, Ellis RH, Hong TD et al., 2005. Drying method influences the development of germinability, desiccation tolerance and subsequent longevity of immature seeds of sumauma (*Ceiba pentan*dra L. Gaertn. [Bombacaceae]) [J]. Seed Science & Technology, 33: 147—156
- Liu J (刘军), Jiang JM (姜景民), Zou J (邹军) et al., 2013. Genetic diversity of central and peripheral populations of *Toona ciliata* var. pubescens, an endangered tree species endemic to China [J]. Chinese Journal of Plant Ecology (植物生态学报), 37 (1); 52—60
- Marshall DR, Brown AHD, 1975. Optimum sampling strategies in genetic conservation [A]. In: Frankel OH, Hawkes JG (eds.), Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow [M]. Cambridge: Cambridge University Press, UK, 53—80
- Miller JS, 2006. Tissue banking for DNA extraction at the Missouri Botanical Garden, USA [A]. In: Savolainen V, Powell MP, Davis K et al., (eds.), DNA and Tissue Banking for Biodiversity and Conservation: Theory, Practice and Uses [M]. London: Royal Botanic Gardens, Kew, 82—86
- Probert RJ, 2003. Seed viability under ambient conditions and the importance of drying [A]. In: Smith RD, Dickie JB, Linington SH et al., (eds.), Seed Conservation: Turning Science into Practice [M]. London: Royal Botanic Gardens, Kew, 337—365
- Probert RJ, Hay FR, 2000. Keeping seeds alive [A]. In; Black M,
  Bewley JD (eds.), Seed Technology and Its Biological Basis
  [M]. Sheffield; Sheffield Academic Press, 375—410
- Probert RJ, Manger KR, Adams J, 2003. Non-destructive measurement of seed moisture [A]. In: Smith RD, Dickie JB, Linington SH et al., (eds.), Seed Conservation: Turning Science into Practice [M]. London: Royal Botanic Gardens, Kew, 367—387
- Rampton HH, Lee WO, 1969. Effects of windrow curing vs. quick drying on post-harvest development of orchard grass ( *Dactylis* glomerata L. ) seeds [J]. Agronomy Journal, 61: 483—484
- Schmidt L, 2000. Guide to Handling of Tropical and Subtropical Forest Seed [M]. Humlebaek; Danida Forest Seed Centre
- Waples RS, Gaggiotti O, 2006. What is a population? An empirical evaluation of some genetic methods for identifying the number of gene pools and their degree of connectivity [J]. Molecular Ecology, 15: 1419—1439
- Way MJ, 2003. Collecting seed from non-domesticated plants for long-term conservation [A]. In: Smith RD, Dickie JB, Linington SH et al., (eds.), Seed Conservation: Turning Science into Practice [M]. London: Royal Botanic Gardens, Kew, 165—201